

PREGLEDNI RAD – REVIEW PAPER

DOI: 10.2298/VETGL1204273S

UDK 159.944.4:661.8'024

OKSIDATIVNI STRES*
OXIDATIVE STRESS**Jelka Stevanović, Sunčica Borožan, Tatjana Božić, S. Jović,**
Tatjana Đekić, B. Dimitrijević**

Neprekidna potreba za kiseonikom je kontradiktorna sa činjenicom da je on toksičan po sisare. Naime, njegova jednovalentna redukcija može imati za posledicu proizvodnju kratkoživećih, hemijski vrlo aktivnih, slobodnih radikala i nekih neradikalnih agenasa (azot-oksida, superoksid anjon-radikala, hidroksilnog radikala, peroksilnog radikala, singletnog kiseonika, peroksinitrita, vodonik-peroksida, hipohloraste kiseline i dr.). Neosporno je da oni imaju brojne poželjne uloge, ali kada im se proizvodnja pojača toliko da organizam ne može svojim antioksidansima (superoksid dismutaza, glutathion peroksidaza, katalaza, transferin, ceruloplazmin, redukovani glutathion i sl.) da ih ukloni, razvija se serija poremećaja koji se jednim imenom nazivaju „oksidativni stres“.

Reaktivne kiseonične vrste koje karakterišu oksidativni stres su sposobne da napadnu sve glavne klase bioloških makromolekula, odnosno proteine, DNK i RNK molekule, a naročito lipide. Pod uticajem slobodnih radikala dolazi do peroksidacije lipida ćelijskih membrana, oksidativnih oštećenja DNK i RNK molekula, razvoja genetskih mutacija, fragmentacije i promene funkcije najrazličitijih proteinskih molekula. Sve to ima za posledicu: narušavanje propustljivosti ćelijskih membrana, poremećaja ćelijske signalizacije i homeostaze jona, smanjenja ili gubitka funkcija oštećenih proteina i sl. Zato se slobodni radikali, koji se oslobađaju tokom oksidativnog stresa, smatraju patogenim agensima mnogih bolesti i starenja. Koja vrsta oštećenja će se desiti i kada, zavisi od prirode slobodnih radikala, mesta delovanja i njihovog izvora.

Ključne reči: oksidativni stres, peroksidacija lipida, proteini, DNK

* Rad primljen za štampu 01. 02. 2012. godine

** Dr sc. med. vet. Jelka Stevanović, redovni profesor, dr sc. Sunčica Borožan, redovni profesor, dr sc. med. vet. Tatjana Božić, redovni profesor, dr sc. med. vet. Slavoljub Jović, docent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu; dr sci Tatjana Đekić, docent, Prirodno-matematički fakultet, Niš; mr sc. med. vet. Blagoje Dimitrijević, asistent, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu

Uvod / Introduction

Naučni interes za izučavanje oksidativnog stresa potiče još iz 1954. godine, kada su Geršman i saradnici prvi objavili teoriju o slobodnim kiseoničnim radikalima. Oksidativni stres se odnosi na ćelijska oštećenja i patološke promene koji prate neuravnoteženost oksidansa nad antioksidansima u živom organizmu. Obuhvata sve fiziološke i patofiziološke procese tokom kojih dolazi do nagomilavanja slobodnih radikala, što ima za posledicu prevazilaženje kapaciteta antioksidativnih mehanizama, ne samo pojedinačnih ćelija, nego i ekstracelularnih tečnosti i kompletnih tkiva (Adams i sar., 1983; Jenkins, 1988; Sies, 1991).

Neprekidna potreba za kiseonikom u cilju održavanja života, kontradiktorna je sa činjenicom da je on toksičan po sisare (Sen, 1995; Halliwell i Gutteridge 1999; Božić i sar., 2003a; 2003b; 2004; Stevanović i sar., 2005). Naime, njegova jednovalentna redukcija može rezultirati produkcijom reaktivnih međuproizvoda, koji na kraju daju kratkoživeće, hemijski vrlo reaktivne, slobodne kiseonične radikale (ROS-Reactive Oxygene Species) i odgovarajuće neradikalske agense (Halliwell i sar., 1991; Halliwell i Gutteridge, 1999; Valko i sar., 2007; Stevanović i sar., 2011a; 2011b). Neki od njih su: azot-oksidi (NO^*), superoksid anjon-radikal ($\text{O}_2^{\bullet-}$), hidroksilni radikal ($^*\text{OH}$), peroksilni radikal (ROO^*), alkoksilni radikal (RO^*) i hidroperoksilni radikal (HO_2^*); zatim singletni kiseonik ($^1\text{O}_2$), peroksinitrit (ONOO^-), vodonik-peroksid (H_2O_2), hipohlorasta kiselina (HOCl) i ozon (O_3). Slobodni radikali koji se oslobađaju tokom oksidativnog stresa smatraju se patogenim agensima mnogih bolesti i starenja (Harman, 1956; Bucala i Cerami, 1992; Finkel, 2003).

Za razliku od visokih koncentracija slobodnih radikala koje vode u razvoj oksidativnog stresa, koji je preduslov mnogobrojnih patoloških efekata, niske i umerene koncentracije ovih materija igraju višestruke značajne uloge u mnogim intracelularnim reakcijama, kao što su: normalan rast ćelija, održavanje i promena položaja i oblika ćelije, pomoć tokom adaptacije i oporavka ćelija od oštećenja izazvanih fizičkim radom, zatim učesće u programiranoj ćelijskoj smrti (apoptozi), ćelijskom starenju, regulaciji najrazličitijih signalnih puteva, moduliranju snage kontrakcija skeletnih mišića, sintezi esencijalnih bioloških jedinjenja, proizvodnji energije, indukciji migracije leukocita i stimulaciji antimikrobne aktivnosti fagocitnih ćelija tokom respiratornog praska (Movat, 1985; Halliwell i Gutteridge, 1999; Božić i sar., 2003; 2003a; 2004; Stevanović i sar., 2011a).

Redoks regulacije privlače sve veću pažnju, a posebno kliničara s obzirom na ulogu oksidativnog stresa u patogenezi brojnih bolesti. Patološka stanja pokazuju biološku značajnost redoks regulacija. Fina ravnoteža između povoljnih i štetnih efekata slobodnih radikala je veoma značajana sa gledišta biologije življenja. Nauka o biološkim redoks regulacijama se brzo razvija i ima uticaj na razne discipline, uključujući fiziologiju, ćelijsku biologiju, patofiziologiju i kliničku medicinu.

Oksidativno oštećenje / *Oxidative damage*

Budući da se tokom aerobnog metabolizma neprekidno stvaraju slobodni radikali, oni se moraju stalno i uklanjati, kako bi se održala ravnoteža i izbeglo oštećenje ćelija. Funkciju uklanjanja i inaktiviranja slobodnih radikala u organizmu vrši sistem antioksidativne odbrane. Najvažniji enzimi ove odbrane su: superoksid dismutaza (SOD), katalaza (CAT) i glutation peroksidaza (GSH-Px). Superoksid dismutaza neutrališe stvoreni superoksidni radikal, pretvarajući ga u manje toksičan vodonik-peroksid, na koji deluje CAT, razlažući ga na vodu i kiseonik. Glutacion peroksidaza uglavnom deluje na H_2O_2 , uz učešće glutationa kao kopsupstrata (H_2O_2 se metaboliše u vodu, a glutation se u reakciji oksidiše), mada može da razloži i druge hidro i lipidne perokside.

Kada prooksidansi nadvladaju navedene mehanizme endogene antioksidativne odbrane organizma reaktivne kiseonične vrste koje se generišu tokom oksidativnog stresa „napadaju“ sve glavne klase bioloških makromolekula (Sen, 1995; Borozan i sar., 2009; 2011; Stevanović i sar., 2011b; Borozan i sar., 2004). Prvu ozbiljniju pretpostavku o štetnim efektima kiseonika i nagoveštaj da su ti efekti verovatno izazvani porastom koncentracije slobodnih kiseoničnih radikala izneo je Gilbert još 1987. godine.

Oštećenja bioloških makromolekula se manifestuju: peroksidacijom lipida ćelijske membrane i membrana unutarćelijskih organela, oksidativnim oštećenjima DNK i RNK molekula, kao i oksidativnim modifikacijama različitih proteina ćelijskih membrana. Peroksidacija membranskih proteina uzrokuje inhibiciju Na^+-K^+ pumpi, opadanje intracelularne pH vrednosti i povećanje volumena ćelije. Narušena biološka svojstva drugih proteinskih molekula (enzima, receptor-skih molekula, transportnih proteina i sl.), nastala kao posledica njihove oksidativne modifikacije, pri čemu se menja konformacija molekula, praćena je i serijom izmenjenih ćelijskih funkcija. Neke od njih su poremećaj signalizacije, usled promenjenog transporta jona kroz membrane ili oštećenja najrazličitijih receptora za hormone, neurotransmitere, citokine i druge signalne molekule. Oksidativno oštećenje DNK i RNK molekula dovodi do mutacija.

Sva pomenuta oštećenja, ponaosob i zajedno, narušavaju integritet ćelija, tako da su povezana sa razvojem nekih bolesti i sa starenjem (Finkel, 2003).

Oksidativno oštećenje membranskih i unutarćelijskih lipida / *Oxidative damage of membrane lipids and intracellular lipids*

Na delovanje slobodnih radikala su otpornije nezasićene masne kiseline koje sadrže jednu dvostruku vezu nego polinezasićene masne kiseline (PUFA – Poly unsaturated Fatty Acids). S obzirom na to da ćelijske membrane obiluju upravo polinezasićenim masnim kiselinama, na njih lako deluju ROS (Duthie i sar., 1990; Cheeseman i Slater, 1993), što je neminovno praćeno poremećajem

ćelijskih funkcija. Peroksidaciju lipida najčešće uzrokuju vrlo reaktivan hidroperoksilni radikal (OH_2^\bullet) i azot-oksidi (NO^\bullet). Ona ima za posledicu disfunkciju ćelija, a u slučaju jakih oštećenja, i njihovo razaranje (Evereklioglu i sar., 2003; Jović i sar., 2011).

Tokom peroksidacije lipida, iz polinezasićenih masnih kiselina nastaju slobodni lipidni radikali, kao što su: hidroksilni radikal (OH^\bullet), hidroperoksilni radikal (HO_2^\bullet), alkoksiradikal (RO^\bullet) i peroksiradikali (RO_2^\bullet). Svi oni, takođe, mogu oksidovati polinezasićene masne kiseline. Na opisani način se razvija krug grešaka (*Circulus vitiosus*), u kome metabolizam ovih reaktivnih vrsta omogućava dalju proizvodnju slobodnih radikala i, shodno tome, doprinosi pogoršavanju oksidativnog oštećenja (Slater, 1987; Halliwell i Gutteridge, 1999; Evereklioglu i sar., 2003). Tako na primer, peroksidacijom masnih kiselina iz fosfolipida koji ulaze u sastav svih membrana, nastaje i grupa toksičnih jedinjenja, poznata pod imenom izoprostani (izomeri prostaglandina). Smatra se da porast koncentracije F_2 -izoprostana u plazmi ima udela u razvoju hepatorenalnog sindroma (Moore, 2004.), ateroskleroze (Patrignani i Tacconelli, 2005), i neenzimatskih toksičnih oštećenja u plućima (Vacchiano i Tempel, 1994).

Osim mogućnosti za proizvodnju novih slobodnih lipidnih radikala, peroksidacija lipida dovodi i do nastanka novih slobodnih masnih kiselina, posebno polinezasićene arahidonske kiseline (Halliwell i sar., 1991; Evereklioglu i sar., 2003).

U prisustvu jona gvožđa i bakra, lipidni peroksidi stvaraju mnogobrojne razgradne produkte, kao i aktivne radikale. Tako na primer, gvožđe katalizuje peroksidaciju lipida, a iz njegove reakcije sa lipidnim hidroperoksidima (LOOH) nastaju reaktivni lipidni alkoksilni radikali (LO^\bullet), koji dalje učestvuju u produbljivanju oksidacije lipida (Domitrović i sar., 2006).

Najveće promene koje nastaju kao rezultat neprekidnog nastavljanja samoodržavajuće lančane reakcije peroksidacije lipida su razaranja PUFA. S obzirom na to da peroksidacija lipida oštećuje funkciju membrana, razlaganjem njihovih polinezasićenih masnih kiselina i nastankom citotoksičnih metabolita lipidnih peroksida (Pizato i sar., 2005; Domitrović i sar., 2006), opada fluidnost membranskih lipida. Istovremeno dolazi do prelaska stvorenih reaktivnih aldehida prvo u citosol, a zatim, i do svih ćelijskih delova koje takođe oštećuju. Reakcija se tu ne zaustavlja, već reaktivni aldehidi, difunduju u međućelijsku tečnost i raznose se po organizmu oštećujući i druge ćelije. To objašnjava sposobnost ROS da izazivaju oštećenja, ne samo na mestu svoje pojačane produkcije, autokrino/parakrino, već i na drugim mestima u organizmu (Matsuo i Kaneko, 2000; Close i sar., 2005).

Na delovanje slobodnih radikala su posebno osetljivi tkivo centralnog nervnog sistema i eritrociti (Clemens i Waller, 1987; Borozan i sar., 1995; 2004). Razlog je obilje polinezasićenih slobodnih masnih kiselina u njihovoj plazminoj membrani, kao i visoka koncentracija potencijalno snažnih pokretača oksidativnih procesa – kiseonika i hemoglobina u eritrocitima. Čak i pod normalnim uslovima,

eritrociti su izloženi slobodnim radikalima, koje sami proizvode ili ih preuzimaju od drugih ćelija, dok cirkulišu. Oni su posebno značajne mete oksidativnog oštećenja tokom pojačanog fizičkog angažovanja organizma. Međutim, ne treba gubiti iz vida da eritrociti, isto kao i ostale ćelije organizma, sadrže složen antioksidativni odbrambeni sistem. On obuhvata antioksidativne enzime, poput katalaze, superoksid dismutaze i glutathion peroksidaze, kao i neenzimske antioksidanse, kao što su tokoferol, askorbat, urat i glutathion (Popović i sar., 2011a; 2011b; Stevanović i sar., 2011b).

Peroksidacija membranskih lipida nije jedina štetna posledica delovanja slobodnih radikala, već se pod uticajem nekih njenih proizvoda provocira oštećenje i drugih ćelijskih molekula i struktura. Tako, pod fiziološkim uslovima, proizvodi peroksidacije lipida (hidroksialkenali) pokazuju afinitet prema amino grupama koje se nalaze u bazama DNK molekula i proteinima, imaju afinitet prema ostacima lizina, a u fosfolipidima prema fosfatidil-serinu i fosfatidil-etanol-aminu. Isto tako pokazuje i određenu selektivnost prema tiolnoj (Cys34-SH) grupi albumina, gradeći kovalentne tioetarske veze za koje je dokazano da su skupljači hidroksilnog radikala. Hidroksialkenal i 4-hidroksinonenal (HNE), koji su proizvod peroksidacije ω -6 PUFA izrazito su toksični u većim količinama, zato što inhibiraju ćelijski rast i modifikuju lipoproteine, tako da podstiču razvoj ateroskleroze (Leonarduzzi i sar., 2005; Popović i sar., 2011b).

Oksidativno oštećenje ćelijskih proteina i DNK molekula /

Oxidative damage to cellular proteins and DNA molecules

Oksidativno oštećenje ćelijskih proteina, izazvano slobodnim radikalima, podrazumeva seriju promena najrazličitijih proteinskih molekula. Neke od njih su: modifikacija aminokiseline, izmena sekundarne i tercijerne strukture proteina, indirektno oštećenje proteina aktivacijom proteolitičkih enzima pomoću hipohloraste kiseline i oksidativna oštećenja proteina produktima peroksidacije lipida.

Značajan vid sekundarne oksidacije proteina je razvoj karbonilnog stresa. Naime, oksidativnim razlaganjem proteina obrazuju se peptidi čije su N-terminalne aminokiseline blokirane α -ketoacilnim proizvodima. U sastavu proteina nalaze se aminokiseline: lizin, arginin, prolin i treonin, čijom oksidacijom mogu nastati karbonilni derivati (Baynes, 1991). Pored toga karbonilne grupe mogu biti uvedene u molekul proteina reakcijom sa aldehidima (malondialdehid), koji se sintetiše tokom lipidne peroksidacije ili sa reaktivnim karbonilnim derivatima (npr. ketoamini i ketoaldehidi). Ova jedinjenja se stvaraju u reakciji redukujućih šećera (glukoza) ili njihovih oksidacionih proizvoda sa lizinskim ostacima u proteinima (glikozilovanje). Iz tog razloga se prisustvo karbonilnih grupa u proteinima koristi kao marker proteinske oksidacije uzrokovane reaktivnim kiseoničnim vrstama. Ovi proizvodi su štetni jer menjaju konformaciju proteina, što se neminovno odražava i na njihove funkcije. Tako je ustanovljeno da je oksidacija proteina koju

procenjujemo na osnovu prisustva karbonilnih grupa povezana sa starenjem, oksidativnim stresom i brojnim bolestima (Xu i sar., 2000; Singh i sar., 2001; Leonar-duzzi i sar., 2005; Singh i Ishwarlal, 2006).

Jedna od promena biološke funkcije proteina je i izmena propustljivosti ćelijskih membrana, usled promenjene aktivnosti njihovih enzimskih struktura (npr. Na-K/ATP-aze), poremećaja funkcije transportnih proteina i sl. Sve ovo vodi u narušavanje različitih vidova ćelijske signalizacije i homeostaze jona. Tako, agregacija receptorskih proteina, koja je izazvana delovanjem slobodnih radikala, ima za posledicu njihovu inaktivaciju i nemogućnost prenošenja signala u ćeliju. Istovremeno, inaktivacija jonskih kanala menja polarnost plazmine membrane i, samim tim, narušava prenos signalnih biostruja. Nažalost, ovim se krug oštećenja ne završava, već se nastavlja, tako što nespecifična propustljivost za jone, posebno za Ca^{2+} , dalje destabilizuje biomembrane, aktivacijom kalcijum-zavisnih proteaza, uključujući i fosfolipazu A_2 (PLA_2). Njeno oslobađanje inicira kaskadne reakcije koje vode u proizvodnju sporednih produkata peroksidacionih procesa (lipidnih posrednika i neuropeptida) koji dalje pogoršavaju situaciju i mogu dovesti do propadanja kompletne ćelije (Slater, 1987; Halliwell i Gutteridge, 1999; Stevanović i sar., 2005; 2010).

Tokom oksidativnog stresa, lipidnom peroksidacijom, formira se malondialdehid koji se hemijski vezuje za molekule DNK. Time se DNK oštećuje pa je onemogućeno odvijanje biohemijski kompletne replikacije, kako bi se dobila normalna ćelija. Usled oksidativnih oštećenja molekula DNK može doći i do odvajanja i cepanja njenih lanaca ili hidrosilovanja konstitutivnih baza. Sva navedena oštećenja mogu da završe mutacijama ili mutagenezom (Valko i sar., 2007). Ove promene su praćene i nemogućnošću popravke DNK, koja je svojstvena zdravim ćelijama pod normalnim uslovima, tako da se mogu stvoriti uslovi i za kancerogenezu.

Osim jedarne DNK, oksidativnim oštećenjima je izložena i mitohondrijska DNK (MtDNK). To se dešava iz nekoliko razloga. Prvenstveno su to: blizina MtDNK izvoru generisanja ROS (unutrašnjoj membrani mitohondrija), nedostatak zaštitnih proteina sličnih histonima i veoma oskudna aktivnost DNK molekula u smislu popravke izmenjenih delova (Clayton, 1984). Oštećenja MtDNK konačno dovode do redukovanja mitohondrijske transkripcije i sinteze RNK, a time i do gubitka funkcije (Wallace, 1999; Ballinger i sar., 2000).

Zaključak / Conclusion

Kada proizvodnja slobodnih radikala nadvlada mehanizme antioksidativne odbrane organizma razvija se serija poremećaja, poznatih kao „oksidativni stres“. Reaktivne kiseonične vrste koje karakterišu oksidativni stres (superoksid anjon-radikal, hidroksilni radikal, vodonik-peroksid, azot-oksidi, peroksinitrit i dr.) su sposobne da napadnu sve glavne klase bioloških makromolekula, od-

nosno proteine, DNK i RNK molekule, a naročito oštećuju lipide. Tako, pod uticajem slobodnih radikala dolazi do peroksidacije lipida ćelijskih membrana, oksidativnih oštećenja DNK i RNK molekula, kao i do poremećaja ili prestanka funkcije najrazličitijih proteinskih molekula. Sve to ima za posledicu: narušavanje propustljivosti ćelijskih membrana, poremećaj najrazličitijih vidova ćelijske signalizacije i homeostaze jona, smanjenje ili prestanak funkcije oštećenih proteina, razvoj genskih mutacija i sl. Opisane promene remete funkcionisanje ćelije toliko da mogu čak dovesti u pitanje njen opstanak. Zato se slobodni radikali, koji se oslobađaju tokom oksidativnog stresa, smatraju patogenim agensima mnogih bolesti i starenja. Koja vrsta oštećenja će se desiti i kada zavisi od prirode slobodnih radikala, mesta delovanja i njihovog izvora.

NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENTS:

Ovaj rad je deo naučno istraživačkih projekata u oblasti osnovnih istraživanja, evidencioni broj: 173034, 175061 i 31085, finansiranih od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije. /

This work is a part of scientific research projects in the area of elementary investigations listed under numbers 173034, 175061 and 31085, financed by the Ministry for Science and Technological Development of the Republic of Serbia.

Literatura / References

1. Adams JD, Lauterberg BH, Mitchell JR. Plasma glutathione and glutathione disulphide in the rat: Regulation and response to oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 227: 749-54.
2. Ballinger S, Patterson C, Yan CN, Doan R, Burow DL, Young CG, Yakes FM, Van Houten B, Ballinger CA, Freeman BA, Runge MS. Hydrogen peroxide- and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. *Circ Res* 2000; 86: 960-6.
3. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991; 40(4): 405-12.
4. Borozan S, Gađanski-Omerović G, Stajković S. Effects of ionizing radiation on antioxidant system in human erythrocytes. *Cent Eur J Occup Environmen Health* 2004; 10(1): 12-7.
5. Borozan S, Gopčević K, Jović S, Gojgić-Cvijović G. Oxidative damage of human plasma proteins induced by benzene. 12th EuCheMS International Conference on Chemistry and Environment. Stockholm University, Stockholm, Sweden, 14-17 June, 2009: Tox 36.
6. Borozan S, Ivanović S, Mičić M, Dimitrijević B, Zicari M, Katić-Radivojević S, Ćupić V. Paraoxonase activity, oxidative stress and toxic effects of diazinon in rats, *Toxicology Letters* 2011; 219.
7. Borozan S, Stojanović S, Djurdjić V. The influence of selenium on the erythrocyte metabolism in rats exposed to toluene. II Antioxidative response to oxidative stress, *Metal Elements in Environment. Medicine and Biology* 1995; 253-7.
8. Božić T, Stevanović J, Kovačević M, Jović S, Lukić S, Petakov M, Borozan S, Mijačević Z, Knežević M, Bulajić S. Toluene mediated oxidative stress and granulomonocitogenesis. *Acta Vet* 2003a; 53(4): 201-10.

9. Božić T, Stevanović J, Kovačević-Filipović M, Borozan S, Popović D, Todorović D. Possible effects of depleted uranium (du): changes in cellular and biochemical values in peripheral blood of ruminants in exposed areas. *Cent Eur J Occup Environ Med* 2003b; 9(4): 267-71.
10. Božić T, Stevanović J, Popović D, Vlaški M, Fišter S, Kovačević-Filipović M. Possible health effects of depleted uranium (du): examination of peripheral blood of ruminants in exposed areas. 22nd Meeting of the European Society of Veterinary Pathology. Olsztyn, Poland, 15-18 Sept, 2004: 56.
11. Bucala R, Cerami A. Advanced glycosylation: chemistry, biology, and implications for diabetes and aging. *Adv Pharmacol* 1992; 23: 1-34.
12. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
13. Clayton D. Transcription of the mammalian mitochondrial genome. *Annu Rev Biochem* 1984; 53: 573-94.
14. Clemens MR, Waller HD. Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chem Phys Lipids* 1987; 45(2-4): 251-68.
15. Close GL, Ashton TA, McArdle A, MacLaren DP. The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2005; Part A 142: 257-66.
16. Domitrović R, Tota M, Milin Č. Oxidative stress in mice: effects of dietary corn oil and iron. *Biol Trace Elem Res* 2006; 113(2): 177-91.
17. Duthie GG, Robertson JD, Maughan RJ, Morrice PC. Blood antioxidant status and erythrocyte lipid peroxidation following distance running. *Arch Biochem Biophys* 1990; 282(1): 78-83.
18. Evereklioglu C, Hamdi E, Doganay S, Cekmen M, Turkoz Y, Otlu B, Ozerol E. Nitric oxide and lipid peroxidation are increased and associated with decreased antioxidant enzyme activities in patients with age-related macular degeneration. *Documenta Ophthalmologica* 2003; 106: 129-36.
19. Finkel T. Oxidant signals and oxidative stress. *Current Opinion in Cell Biology* 2003; 15: 247-54.
20. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WQ. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science* 1954; 119: 623-6.
21. Gilbert IA, Fouke JM, Mcfadden ER. Heat and water flux in the intrathoracic airways and exercise-induced asthma. *Journal of Applied Physiology* 1987; 63: 1681-91.
22. Halliwell B, Kaur H, Ingelman-Sundberg M. Hydroxylation of salicylate as an assay for hydroxyl radicals: a cautionary note. *Free Radic Biol Med* 1991; 10(6): 439-41.
23. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rd ed. New York: Oxford University Press, Oxford 1999: 140-84.
24. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956; 11: 298-300.
25. Jenkins RR. Free radical chemistry. Relationship to exercise. *Sports Med* 1988; 5: 156-70.
26. Jović S, Stevanović J, Borozan S, Trailović D. The development of oxidative stress in different types of physical activities of racehorses. Proceedings the thirteen regional symposium in animal clinical pathology and therapy Clinica Veterinaria. Subotica, Serbia, 16-18 Jun 2011: 97-102.
27. Leonarduzzi G, Chiarpotto E, Biasi F, Poli G. 4-Hydroxynonenal and cholesterol oxidation products in atherosclerosis. *Mol Nutr Food Res* 2005; 49(11): 1044-9.

28. Matsuo M, Kaneko T. In: Radak Z (Ed.). The Chemistry of Reactive Oxygen Species and Related Free Radicals, Human Kinetics. Leeds, 2000: 1-34.
29. Moore K. Isoprostanes and the liver. Chem Phys Lipids 2004; 128(1-2): 125-33.
30. Movat HZ. The inflammatory Reaction. Amsterdam, Oxford: Elsevier Scientific Publications, 1985.
31. Patrignani P, Tacconelli S. Isoprostanes and other markers of peroxidation in atherosclerosis. Biomarkers 2005; 10(Suppl 1): 24-9.
32. Pizato N, Bonatto S, Yamazaki RK, Aikawa J, Nogata C, Mund R, Nunes EA, Piconcelli M, Naliwaiko K, Curi R, Calder PC, Fernandes LC. Ratio of ω -6 to ω -3 fatty acids in the diet affects tumor growth and cachexia in Walker 256 tumor-bearing rats. Nutr Cancer 2005; 53(2): 194-201.
33. Popović T, Borozan S, Arsić A, Debeljak-Martačić J, de Luka S, Milovanović IA, Trbović A, Glibetić M. Effects of omega-3 supplementation on plasma phospholipid fatty acids profile and liver phospholipid fatty acids profile in aged wistar rats. Croatica Chemica Acta, 2011b; 84(1): 73-9.
34. Popović T, Borozan S, Arsić A, Martačić JD, Vučić V, Trbović A, Mandić L, Glibetić M. Fish oil supplementation improved liver phospholipids fatty acid composition and parameters of oxidative stress in male wistar rats. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2011a.
35. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. J Appl Physiol 1995; 79(3): 675-86.
36. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med 1991; 91: 31S-8S.
37. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. Diabetologia 2001; 44: 129-46.
38. Singh U, Ishwarlal J. Oxidative Stress and Metabolic diseases. Pathophysiology 2006; 13(3): 129-42.
39. Slater TF. Free radicals and tissue injury: fact and fiction. Br J Cancer Suppl 1987; 8: 5-10.
40. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Antioksidativna odbrana. Vet glasnik 2011b; 58(3-4): 247-56.
41. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Ignjatović I. Fiziologija slobodnih radikala. Vet glasnik 2011a; 58(1-2): 43-54.
42. Stevanović J, Borozan S, Jović S, Trailović D. Oxidative stress in racing horses. Horseville Science and Profession, First Regional Symposium „Breeding, re-production and health care horses”. Novi Sad, Serbia, 1-3 October 2010: 77-84.
43. Stevanović J, Kovačević-Filipović M, Vlaški M, Popović D, Borozan S, Jović S, Božić T. A study on oxidative stress and peripheral blood parameters of cows bred in the area exposed to depleted uranium ammunition. Acta Vet 2005; 55(4): 269-78.
44. Vacchiano CA, Tempel GE. Role of nonenzymatically generated prostanoid, 8-iso-PGF2 alpha, in pulmonary oxygen toxicity. J Appl Physiol 1994; 77(6): 2912-7.
45. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human diseases. Int J Biochem and C Biol 2007; 39: 44-84.
46. Wallace D. Mitochondrial diseases in man and mouse. Science 1999; 283(5407): 1482-8.

47. Xu J, He L, Ahmed SH, Chen SW, Goldberg MP, Beckman JS, Hsu CY. Oxygen-glucose deprivation induces inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine expression in cerebral endothelial cells. Stroke 2000; 31: 1744-51.

ENGLISH

OXIDATIVE STRESS

**Jelka Stevanović, Sunčica Borozan, Tatjana Božić, S. Jović, Tatjana Đekić,
B. Dimitrijević**

The unceasing need for oxygen is in contradiction to the fact that it is in fact toxic to mammals. Namely, its monovalent reduction can have as a consequence the production of short-living, chemically very active free radicals and certain non-radical agents (nitrogen-oxide, superoxide-anion-radicals, hydroxyl radicals, peroxy radicals, singlet oxygen, peroxynitrite, hydrogen peroxide, hypochlorous acid, and others). There is no doubt that they have numerous positive roles, but when their production is stepped up to such an extent that the organism cannot eliminate them with its antioxidants (superoxide-dismutase, glutathione-peroxidase, catalase, transferrin, ceruloplasmin, reduced glutathione, and others), a series of disorders is developed that are jointly called „oxidative stress.“

The reactive oxygen species which characterize oxidative stress are capable of attacking all main classes of biological macromolecules, actually proteins, DNA and RNA molecules, and in particular lipids. The free radicals influence lipid peroxidation in cellular membranes, oxidative damage to DNA and RNA molecules, the development of genetic mutations, fragmentation, and the altered function of various protein molecules. All of this results in the following consequences: disrupted permeability of cellular membranes, disrupted cellular signalization and ion homeostasis, reduced or loss of function of damaged proteins, and similar. That is why the free radicals that are released during oxidative stress are considered pathogenic agents of numerous diseases and ageing. The type of damage that will occur, and when it will take place, depends on the nature of the free radicals, their site of action and their source.

Key words: oxidative stress, lipid peroxidation, proteins, DNA

РУССКИЙ

ОКСИЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

**Елка Стеванович, Сунчица Борозан, Татьяна Божич, С. Йович, Татьяна Джекич,
Б. Димитриевич**

Непрерывная нужда для кислородом противоречивая с фактом, что он токсический за млекопитающими. А именно, его одновалентная редукция может иметь своим последствием производство короткоживущих, химически очень активных, свободных радикалов и некоторых нерадикальных агентов (азота окись, супер-окись-анион-радикала, гидроксильного радикала, пероксильного радикала, синглетного кислорода, пероксинитрита, водород-пероксида, гипохлористой кислоты и

пр.). Бесспорно, что они имеют численные желательные роли, но когда им производство усилится столько, что организм не может своими антиоксидантами (супер-окись-дисмутаза, глутатион-пероксидаза, каталаза, трансферин, церулоплазмин, редуцированный глутатион и т.п.) их убрать, развивается серия расстройств, которые одним именем называются "окислительный стресс".

Реактивные кислородные виды, характеризующие окислительный стресс способны напасть все главные классы биологических макромолекул, то есть протеинов ДНК и РНК молекул, а особенно липидов. Под влиянием свободных радикалов приходит до перокисления липидов клеточных мембран, окислительных повреждений ДНК и РНК молекул, развития генетических мутаций, фрагментации и изменения функции самых различных протеиновых молекул. Всё это имеет своим последствием: нарушение проницаемости клеточных мембран, расстройств клеточной сигнализации и гомеостаза ионов, уменьшения или потери функций повреждённых протеинов, и т.п. Потому свободные радикалы освобождаемые в течение окислительного стресса, считаются патогенными агентами многих болезней и старения. Который вид повреждения случится и когда, зависит от природы свободных радикалов, места действованиия и их источника.

Ключевые слова. окислительный стресс, перокисление липидов, протеины, ДНК